

# 歯垢内における maltose の有機酸産生能について

## Organic acid production from maltose in plaque

西口栄子<sup>1)</sup>、西山 圭<sup>1)</sup>、井出 桃<sup>1)</sup>、久保田みどり<sup>2)</sup>

Eiko Nishiguchi, Kei Nishiyama, Momo Ide, Midori Kubota

<sup>1)</sup> 湘南短期大学 歯科衛生学科

<sup>2)</sup> 大垣女子短期大学 歯科衛生学科

**キーワード** : 麦芽糖、蔗糖、歯垢、*S. mutans*

### Abstract

Dental plaque, one cause of dental caries and periodontal diseases, is formed by the synthesis of water-insoluble polyglucan by glucosyl transferase possessed by *S. mutans*. When various sugars infiltrate dental plaque, *S. mutans* metabolizes them and produces organic acids, consequently decreasing the dental plaque pH, which decalcifies enamel. Of the various sugars, it has not yet been clarified whether maltose decreases the dental plaque pH. Thus, we performed a basic study of bacterial cell body synthesis and organic acid productivity using various sugars. 1) The highest number of bacterial cells adhering to the test tube wall was noted when bacteria were cultured with sucrose-containing medium, whereas no adhesion was noted in cultures with starch- or maltose- containing medium. 2) The highest number of bacterial cells adhering to metal wire was noted in culture with sucrose-containing medium, whereas no adhesion was noted in cultures with starch- or maltose-containing medium. After slight adhesion to metal wire was noted after culture for 1 day with medium containing 5% sucrose, bacteria were subsequently cultured with media containing various sugars. The number of

adherent bacterial cells was higher in culture with sucrose-containing medium, whereas those in media containing maltose and starch were similar to that in the medium a containing various sugars, the lowest pH was detected in culture with medium containing maltose, whereas pH values in cultures with starch- and maltose-containing media were similar to that in the control.

These findings suggest that *S. mutans* has no starch- or maltose-metabolic enzyme.

### 要旨

歯垢は、*Streptococcus mutans* (*S. mutans*) 菌の持つ glucosyltransferase が sucrose を分解して粘性で非水溶性の polyglucan を合成し、歯面に付着させることで起こる。う蝕は、歯垢中に種々の糖が浸透して、*S. mutans* 菌が持つ酵素によって代謝され、有機酸を生成して歯垢中の pH を下げ、エナメル質を脱灰することによって起こると言われている。各種糖類のうち、maltose が歯垢中の pH を低下させるかどうかについては、種々の報告があり、未だ明らかではない。そこで、各種糖類による菌体合成能と有機酸生成能を基礎的に観察した。その結果、①試験管壁への菌体付着量は、sucrose 入り培地で最も多く、starch 入り培地、maltose 入り培地では菌体の付着は観察されなかった。②金属線への菌体付着

量は、sucrose 入り培地で最も多く、starch 入り培地、maltose 入り培地では観察されなかった。又、5 % sucrose 入り培地で一日培養してかすかに金属線への菌体の付着を認めた後、各種糖入り培地で培養した結果、sucrose 入り培地で菌体付着量が多く、starch や maltose 入り培地では、コントロールとほぼ同様であった。④各種糖入り培地で培養した後の培地の pH は、sucrose 入り培地で最も低く、starch や maltose 入り培地の pH はコントロールとほぼ同様であった。

これらの結果より、*S. mutans* 菌は starch や maltose を分解する酵素を持たないことが推測できる。

## 緒言

う蝕・歯周疾患の成因と糖類との関係は、蔗糖による菌体外多糖体の形成<sup>1-3)</sup>が大きく関わっている。sucrose は、*S. mutans* 菌の持つ glucosyltransferase により、分解されて非水溶性の粘性多糖体であるグルカンを生産<sup>4-6)</sup>して、歯面への細菌の吸着を容易にし、更に、歯垢の中で *S. mutans* 菌の持つ sucrose 代謝系の酵素により sucrose が代謝されて、有機酸を産生することでエナメル質を脱灰するという酸脱灰説が定着している<sup>(7,8)</sup>。その他の糖は、粘性で非水溶性のグルカンは産生しないが、歯垢中で菌が持つ代謝酵素により代謝され有機酸を産生することで歯垢中の pH を低下させエナメル質の脱灰に関与すると言われている<sup>(9,10)</sup>。

酸脱灰説に基づいたう蝕予防方法も種々提案されている。予防の基本としては、宿主である歯の耐酸性を強化する、*S. mutans* 菌を口腔内から排除する、口腔内に長く停滞するう蝕誘発性食品には代替糖を使用するという3つの概念が確立されている。これら3つの方法のうち、砂糖の代用糖として、非醗酵性の糖アルコールの使用<sup>(11-13)</sup>が主流になりつつあり、育児の早い段階（場合によっては妊娠期において）から、間食指導やブラッシング指導などの口腔衛生教

育も施されており、予防歯科的成果は効果を挙げつつあるが、非醗酵性の糖アルコールは、多量摂取による害が認められている。しかし、間食への使用程度では問題はないと思われるが、加工食品に濫用されることは今ひとつ問題が残ると考える。蔗糖を始め、多くの醗酵性の糖が栄養学的に重要であると考え、砂糖に代わる甘味料を天然糖から探り、口腔及び全身の健康の維持・増進に有効な糖の開発を目指している。

口腔内疾患の食生活面からの予防としては、歯垢を形成させない、また、歯垢の中で有機酸を生成させない糖の開発が重要と考える。Kakuta<sup>(14)</sup>や平沢ら<sup>(15)</sup>は、maltose は、*S. mutans* による非水溶性グルカンの産生を阻害すると報告しているが、多くの研究者は、starch は歯垢中の pH を低下させない<sup>(16-18)</sup>が、maltose は、歯垢中の pH を低下させる<sup>(9,10,19)</sup>と報告しており、歯垢中における maltose による有機酸生成による pH 低下はまだ明らかにされていないと考える。そこで、人工甘味料を含めた各種糖と市販清涼飲料水を用いて、菌体合成と菌体の歯面への付着能、有機酸生成能を基礎的に観察し、砂糖代用糖としての maltose の有効性を検討した。

## 試料と方法

### [ 試料 ]

\*各種甘味料 : glucose、fructose、galactose、mannose、sucrose、lactose、maltose、fructooligosaccharide、lactooligosaccharide、starch、paratinose、palsweet、sugarcut)

\*清涼飲料水（市販清涼飲料水 50 種類）

### [ 方法 ]

1. *S. mutans* 増殖菌体の金属線に対する付着状態の観察

1) *S. mutans* (*Streptococcus mutans* Ingbrid 株) を 37℃ で一夜 Brain Heart Infusion ブロース (Difco 社製 ; BHI ブロース) で培養した。

2) BHI ブロース溶液に各種糖を加え、5 %



図 1. 各種糖溶液による金属線への菌体の付着状況  
A: control, B: sucrose, C: glucose, D: fructose, E: galactose, F: mannose, G: lactose, H: maltose, I: starch, J: paratinose, K: palseweet, L: sugarcut, M: fructooligosaccharide, N: lactooligosaccharide



図 2. 5 % sucrose 溶液で 1 日培養後、各種糖溶液による菌体の金属線への付着状況  
A: control, B: sugarcut, C: palseweet, D: paratinose, E: starch, F: lactooligosaccharide, G: fructooligosaccharide, H: lactose, I: starch, J: maltose, K: mannose, L: galactose, M: fructose, N: glucose

溶液とした。

- 3) 5 %各種糖加 BHI ブロースを 6 ml 含む培養試験管に 0.1ml の一夜培養菌液を加え、ゴム栓を通した矯正用コバルト線（金属線）を挿入して密封した。

- 4) 37℃で 1 - 5 日間培養した。

## 2. 濁度の測定

- 1) 金属線に付着した菌塊を 6 ml の蒸留水に浸し、軽く振って洗う。
- 2) 洗った金属線を 3 ml の 1 N NaOH 溶液に入れ、ミキサーで激しく振とうして、菌塊をはずして均一な浮遊液とし、吸光度 550nm で分光光度計を用いて濁度を測定した。

表 1. 各種糖による *S. mutans* 菌培養後の試験管壁、金属線への菌体付着状況

糖の種類	菌体産生	
	試験管壁	金属線
control	—	—
glucose	+	—
fructose	+	—
galactose	+	—
mannose	+	—
sucrose	+	+++
lactose	+	—
maltose	—	—
fructooligosaccharide	+	++
lactooligosaccharide	+	++
starch	—	—
paratinose	+	—
palseweet	—	—
sugarcut	—	—

## 3. 糖の定量

- 1) 付着した菌塊を金属線からはずし、1 N NaOH に溶解した浮遊液と各種清涼飲料水を HPLC 用ディスポーザルフィルター、マイシヨリディスク（45  $\mu$ m）にてろ過した。
- 2) TSK gel Amide-80（4.6mm,I.D  $\times$  25cm）に浮遊液、清涼飲料水を 1 ml 添加して、アセトニトリル：水 = 80：20 の溶媒で溶出させ示差屈折計検出器（RID-6A, 島津製作所）にて検出した。（流速 1.0 ml/min, 30℃）

## 4. 蛋白質の定量<sup>20)</sup>

- 1) 試料 0.2ml に炭酸 Na - アルカリ性銅液 1 ml を加えて混和し室温に 10 分放置した。
- 2) 蒸留水で 2 - 3 倍希釈したフェノール試薬を 0.1ml 加えてただちに混和し、30 分放置した。
- 3) 750nm の波長で吸光度を測定した。

## 5. pH の測定

表2. 各種糖による *S. mutans* 菌培養後の付着菌体の  
濁度、菌体中の糖量、蛋白質量

	濁度	糖量 (mg/ml)	蛋白質量 (mg/ml)
control	0.382 ± 0.126	0.954 ± 0.446	0.090 ± 0.076
glucose	2.167 ± 0.468 ***	4.057 ± 0.796 ***	0.450 ± 0.059 ***
fructose	1.950 ± 0.468 ***	4.064 ± 1.412 ***	0.391 ± 0.105 ***
mannose	2.106 ± 0.516 ***	3.245 ± 1.256 ***	0.345 ± 0.121 ***
galactose	2.028 ± 0.569 ***	3.131 ± 1.095 ***	0.360 ± 0.088 ***
maltose	0.842 ± 0.177	1.862 ± 0.728 *	0.117 ± 0.044
lactose	2.246 ± 0.567 ***	3.623 ± 0.953 ***	0.446 ± 0.088 ***
sucrose	2.361 ± 0.656 ***	7.276 ± 1.356 ***	0.586 ± 0.188 ***
fructooligo saccharide	2.250 ± 0.551 ***	4.613 ± 1.407 ***	0.432 ± 0.043 ***
starch	0.448 ± 0.207	0.892 ± 0.449	0.055 ± 0.050
palsweet	0.720 ± 0.229	1.649 ± 0.806 *	0.116 ± 0.058
paratinose	1.309 ± 0.464 ***	2.506 ± 0.718 ***	0.212 ± 0.085 **

\*\*\* P < 0.001, \*\* P < 0.01, \* P < 0.05 (M ± S.D., n=8)

pH の測定は、日立堀場 pH/ION Meter (F-24) を用いて測定した。

## 結果

### 1. 各種甘味料による菌体増殖能の観察

#### 1) 菌体の試験管壁、金属線への付着状態の観察

5 % 各種甘味料（培地に溶かす）溶液に *S. mutans* 菌を添加し、金属線を入れて 37℃ にて 5 日間培養し、試験管壁への菌体の付着状態、金属線に付着する菌体の量、菌体の濁度、菌体中の糖量、菌体中の蛋白質量等について観察した。その結果、試験管壁への付着状態は、maltose、starch、palsweet、sugarcut 入り培地では、菌体の付着は観察されなかったが、その他の糖類入り培地では金属線への菌体の付着が観察された。金属線への付着状態は、sucrose 入り培地で最も多く、次に、fructooligosaccharide、lactooligosaccharide 入り培地に付着が観察され

たが、その他の糖類入り培地では菌体の付着は観察されなかった（図1、表1）。また、5 % sucrose 入り培地に一日培養してかすかに菌体の付着を認めた後、金属線を各種 5 % 糖入り培地中で 5 日間培養した結果、sucrose 入り培地での付着量が最も多く、次に、fructooligosaccharide、fructose、lactooligosaccharide 入り培地に多く、次いで、lactose、glucose、galactose、mannose 入り培地では菌体の付着が認められた。maltose、starch、paratinose、palsweet、sugarcut 入り培地では control とほぼ同様な状態であった（図2）。

### 2. 増殖菌体の濁度、糖量、蛋白質量の観察

金属線に付着した増殖菌体をはずし、菌体の濁度、糖量、たんぱく質量の変化を観察した結果、共に、maltose、starch、palsweet 以外の糖類入り培地では control に比べ 0.1 % の危険率で有意に濁度、糖量の増加が観察された（表2）。また、蛋白質量は、同様に maltose、starch、palsweet

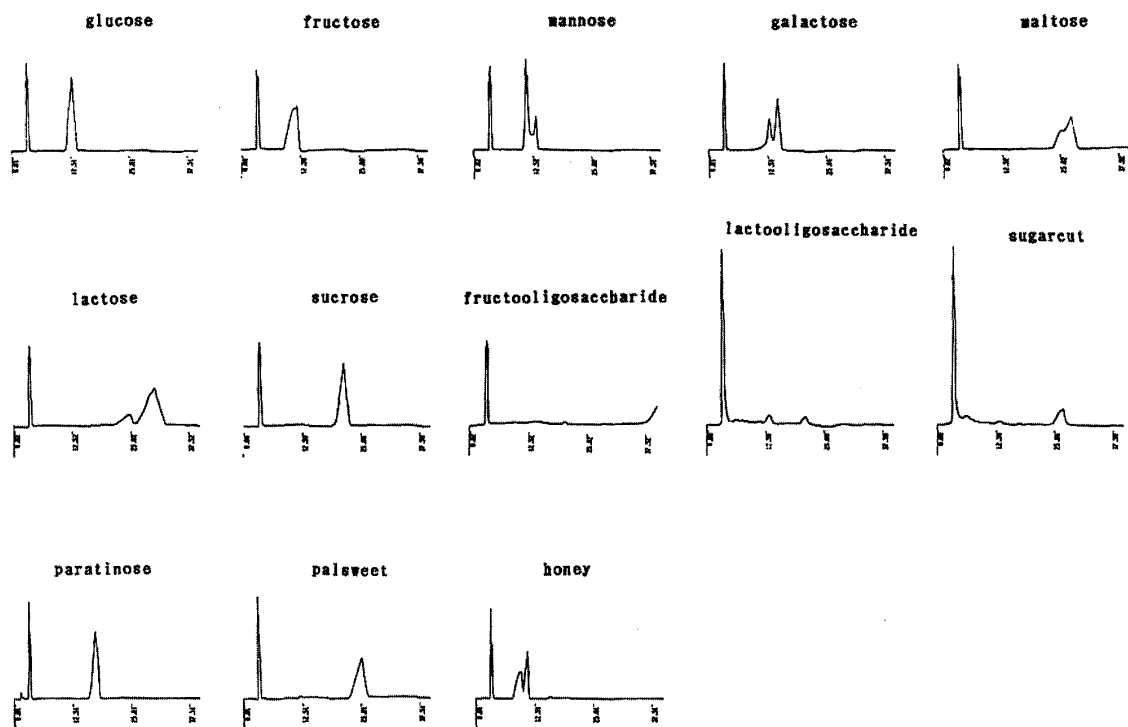


図 3. HPLC による各種糖のスペクトル

入り培地では、有意差は観察されず、glucose、fructose、mannose、galactose、lactose、sucrose、fructooligosaccharide、lactooligosaccharide 入り培地では 0.1%の、paratinose 入り培地では 1%の有意差で蛋白質量の増加が観察された（表 2）。

### 3. 各種糖類溶液中での *S. mutans* 菌培養前後の糖量の変化

各種糖の HPLC によるスペクトルを示す（図 3）。各種糖による *S. mutans* 菌培養前後の糖量の観察を行った。その結果、maltose、palsweet 入り培地では、糖量の減少は観察できなかったが、その他の糖類入り培地では、培養後、それぞれの糖の量は減少した（図 4）。

### 4. pH の測定

各種糖で培養後、培地の pH を測定した結果、control の pH  $5.44 \pm 0.24$  と比較して、maltose、starch、palsweet、sugarcut 入

り培地ではほとんど差がなく、その他 glucose、fructose、mannose、galactose、lactose、sucrose、fructooligosaccharide、lactooligosaccharide 入り培地では 0.1%の、paratinose 入り培地では 1%の有意差で pH は低下した（表 3）。

### 5. 清涼飲料水中の糖類の検出

HPLC を用いて市販清涼飲料水中の糖類の検出を行い、清涼飲料水による菌体付着能を観察した。その結果、sucrose、glucose、fructose がほとんどの市販清涼飲料水中に含まれ、それらの糖による菌体の試験管壁への付着状態を観察した結果、maltose、aspaltein 入り清涼飲料水では試験管壁への菌の付着は観察されなかった（表 4）。また、金属線への菌体の付着状態を観察した結果、sucrose 入りの清涼飲料水では金属線に多くの菌体の付着が観察された（表 4）が glucose + fructose、maltose 入りの清涼飲料水では金属線への菌体の付着は観察されなかった（表 4）。

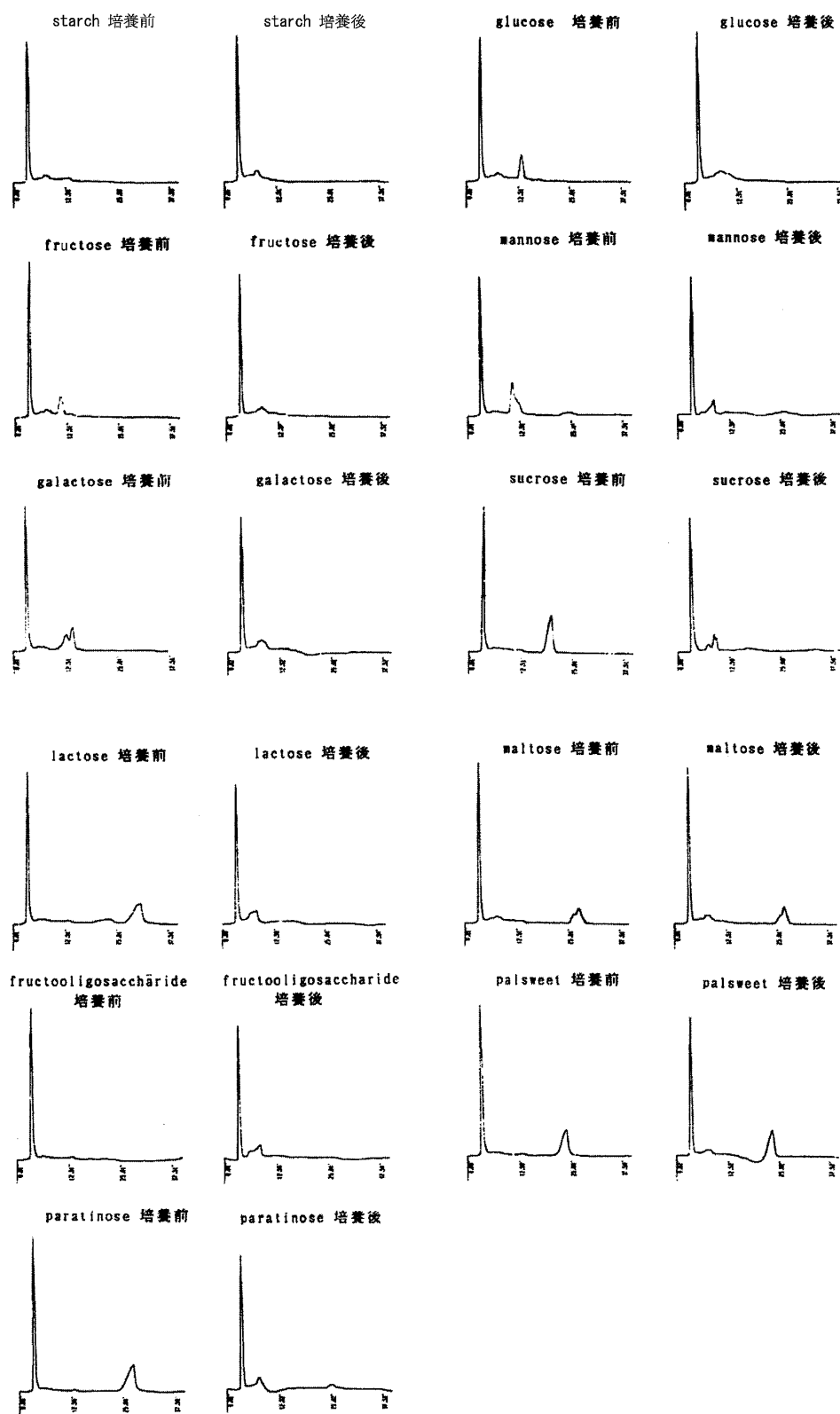


図 4. HPLC による各種糖溶液による *S. mutans* 菌培養前後の培養液中糖量の変化

表 3. 各種糖による *S. mutans* 菌培養後の  
培地の pH

	pH
control	5.44 ± 0.31
glucose	3.84 ± 0.06 ***
fructose	3.76 ± 0.03 ***
mannose	3.90 ± 0.05 ***
galactose	4.05 ± 0.24 ***
maltose	5.61 ± 0.25
lactose	3.90 ± 0.02 ***
sucrose	3.85 ± 0.09 ***
fructooligo- saccharide	3.85 ± 0.03 ***
lactooligo- saccharide	3.89 ± 0.04 ***
starch	5.43 ± 0.94
palsweet	5.62 ± 0.49
paratinose	5.57 ± 0.32
sugarcut	5.33 ± 0.04

( M ± S. D. , n=6 )

\*\*\* P < 0.001

\*\* P < 0.01

\* P < 0.05

## 考察

*S. mutans* 菌によって sucrose から合成された粘性・非水溶性のグルカンが歯面に接着し、機械的清掃が不十分な場合、菌が堆積して歯垢を形成する。う蝕は、歯垢の中に各種の糖が浸入し、菌のもつ酵素により分解されて有機酸を生

成し、有機酸がエナメル質を脱灰することによって成立するとする酸脱灰説が定着している。う蝕予防の見地から非う蝕性甘味料或いは砂糖に代わる糖の開発を追及する過程で、う蝕に関する役割として、未だ一定した見解が得られていない maltose に注目した。そこで、天然糖、人工甘味料などを対象として、菌体産生能、菌体中での有機酸生成能の見直しを行った。その結果、maltose 入り培地では、菌体の試験管への付着や金属線への菌体の付着は観察されず、菌体外多糖体は生成しないことが観察された。また、各種糖で生成された付着菌体を溶解して糖量、たんぱく質量、濁度などを観察した結果、sucrose 入り培地では、それぞれ control より有意に sucrose が消費され、菌体を生成したことを示す結果であった。starch、maltose、maltose の還元糖である palsweet 入り培地では、培養前と同じであった。また、培養後の培地の pH を測定した結果、starch、maltose、palsweet、sugarcut 入り培地では、control との差はみられなかった。また、培養前の pH と変わりはなかった。このことは、starch、maltose、palsweet などは、*S. mutans* により代謝されないことを示すものと考ええる。その他の糖は、*S. mutans* により代謝され、有機酸を生成することを示すものと考ええる。そのなかでも sucrose 入り培地は培養後、最も pH の低下が著しい結果を示した。本研究での結果は、sucrose は、グルカンを合成して、菌体の歯面への吸着を容易にし、更に菌体中で菌の餌となり、*S. mutans* のもつ酵素によって代謝を受けて有機酸を生成し、生成した有機酸により歯垢中の pH を低下させることによってエナメル質を脱灰するとする酸脱灰説を支持するものである。一方、sucrose 以外の醗酵糖は、菌体外多糖は生成しないが、歯垢の中で有機酸を生成するとの説を支持するものである。また、starch が歯垢を生成しないこと、菌体中の pH も低下させないことは多くの報告と一致する。しかし、本実験では、maltose は starch と同様に菌体合成、pH

表 4. 各種市販清涼飲料水による *S. mutans* 菌培養後の試験管壁、金属線への菌体付着状況

清涼飲料水	糖度 (%)	含有糖の種類	菌体産生	
			試験管壁	金属線
A. fruit juice drinks				
a. 100 % fruit juice				
1. KA-grapefruit	8.8	glucose, fructose, sucrose	+	+++
2. NO-apple	9.8	glucose, fructose, sucrose	+	+++
3. KA-apple	10.4	glucose, fructose, sucrose	+	+++
4. BA-orange	10.6	glucose, fructose, sucrose	+	+++
5. NA-orange	11.0	glucose, fructose, sucrose	+	+++
6. KA-orange	11.2	glucose, fructose, sucrose	+	+++
7. BA-apple	11.2	glucose, fructose, sucrose	+	+++
8. KA-paine	11.4	glucose, fructose, sucrose	+	+++
9. NA-apple	12.0	glucose, fructose, sucrose	+	+++
10. KA-grape	13.0	glucose, fructose,	+	-
b. 20 % fruit juice				
1. SA-orange	10.4	glucose, fructose, sucrose	+	+++
2. GU-grapefruit	10.8	glucose, fructose, sucrose	+	+++
3. HA-apple	11.0	glucose, fructose, sucrose	+	+++
4. MI-orange	11.0	glucose, fructose, sucrose	+	+++
5. MI-grapefruit	11.0	glucose, fructose,	+	-
6. NE-peach	11.4	glucose, fructose, sucrose	+	+++
7. AP-apple	11.4	glucose, fructose, sucrose	+	+++
8. HA-orange	12.2	glucose, fructose, sucrose	+	+++
c. other drinks				
1. LE-lemon	6.8	glucose, fructose	+	-
2. LE-lemon	8.0	glucose, fructose	+	-
3. GU-lemon	8.4	glucose, fructose	+	-
4. HA-lemon	9.6	glucose, fructose, sucrose	+	+++
5. SU-lemon	10.2	glucose, fructose, sucrose	+	+++
B. tea drinks				
a. lemon tea				
1. PI	6.8	glucose, sucrose	+	++
2. GO	7.0	glucose, fructose, sucrose	+	+++
b. straight tea				
1. GO	4.4	sucrose	+	+++
c. milk tea				
1. KO	9.2	sucrose	+	+++
C. coffee drinks				
1. BO	9.0	sucrose, lactose	+	+++
2. GE	9.0	sucrose	+	+++
D. sport drinks				
1. PO-S	2.8	fructose, sucrose	+	+
2. AQ	4.2	glucose, maltose	-	-
3. PO	6.0	glucose, fructose, sucrose	+	+++
4. NC	6.4	glucose, fructose	+	-
E. nutritious drinks				
1. VI	8.2	glucose, fructose, sucrose	+	+++
2. FI	15.0	glucose, fructose	+	-
3. OR	15.4	glucose, fructose, sucrose	+	+++
F. milky drinks				
1. AM	10.4	glucose, fructose, sucrose	+	+++
2. CA	11.0	glucose, fructose	+	-
3. CA-orange	11.0	glucose, fructose	+	-
4. CA-grape	11.0	glucose, fructose	+	-
5. YO	11.8	glucose, fructose, sucrose	+	+++
G. other drinks				
1. TA	0.2	(aspalteim)	-	-
2. DA	0.2	(aspalteim)	-	-
3. ZI	7.8	glucose, fructose, maltose	+	-
4. SU	9.0	glucose, fructose	+	-
5. MI	9.2	glucose, fructose, sucrose	+	+++
6. PE	11.0	glucose, fructose	+	-
7. SE	11.1	glucose, fructose	+	-
8. FA-grape	12.0	glucose, fructose	+	-
9. FA-orange	12.2	glucose, fructose	+	-

低下も示さず、う蝕の原因糖ではないことを示す結果であった。starch と maltose は同じ代謝系にあるため、*S. mutans* 菌は starch、maltose を代謝する酵素を持たないことが推測できる。

う蝕予防における保健指導では、適切な口腔清掃によるプラークコントロールと共に、甘味

摂取の指導が欠かせない。しかし、人間にとって甘味とは、生命活動を維持する直接的なエネルギーとなる重要な栄養素であるという他に、甘味を楽しむことで内面的な豊かさをもたらし、生活の質に幅を持たせ向上させる手段の一つでもある。また、甘味食品が手軽に入手できる現



代では、単に砂糖摂取量および摂取機会の減少を目標とする保健指導は困難を伴うものである。さらに、最近の食品安全に対する消費者意識の高まりから、人工的な食品の抵抗感が生まれ、本来あるべき姿の自然な食品の利用を求める志向が強まっている。maltose は、甘みは、砂糖の1/3 で自然な甘みを持つため、乳幼児の味覚形成上からも好ましい甘味料と考える。

## 結論

本研究では、maltose の歯垢形成能、有機酸生成能を基礎的に観察し、砂糖 (sucrose) 代用糖としての maltose の有効性を検討した結果、maltose は、非水溶性多糖体形成能を持たず、また、有機酸生成を触媒する酵素も持たないことが推測出来るため、砂糖代用糖として日常生活に活用することは健康増進、う蝕・歯周疾患予防上効果的と考える。

## 謝辞

本研究に際し S. mutans 菌を提供してくださいました神奈川歯科大学口腔細菌学教室梅本俊夫教授に深く感謝申し上げます。

## 参考文献

1. König, K.G. and Guggenheim, B. :In-vitro effect of dextranase on plaque and caries. *Helv. Odont. Acta* 12 : 48-55, 1967.
2. Gibbons, R.J. and Banghart, S.B. :Synthesis of extracellular dextran by cariogenic bacteria and its presence in human dental plaque. *Archs Oral Biol.* 12: 11-24, 1967.
3. Guggenheim, B. and Schroeder, H.E. : Biochemical and Morphological aspects of extracellular polysaccharides produced by cariogenic streptococci. *Helv. Odont. Acta* 11: 131-152, 1967.
4. Shaw, J. H., Krumins, I. and Gibbons, R. J. : Comparison of sucrose, lactose, maltose and glucose in the causation of experimental oral diseases. *Archs Oral Biol.* 12 : 755-768, 1967.
5. Gibbons, R. J. and Nygaard, M. :Synthesis of insoluble dextran and its significance in the formation of gelatinous deposits by plaque-forming streptococci. *Archs Oral Biol.* 13: 1249-1262, 1968.
6. Balekjian, A. Y., Longton, R. W., Cole, J. S. and Guidry, M. S. : The effect of disaccharides on the plaque-forming potential of streptococcus mutans. *J. Dent. Res.* 56 : 1359-1363, 1977.
7. Paul, E. and Tullar, P. D. : Rapid acid formation resulting from the action of plaque or salivary sediment on sugars. *J. D. Res.* 35: 220-225, 1956.
8. Bowen, W. H., Eastoe, J. E. and Cock, D. J.: The effect of sugar solutions on the pH of plaque in caries-active monkeys. *Archs Oral Biol.* 11: 833-837, 1966.
9. Frostell, G. : Quantitative determination of the acid production from different carbohydrates in suspensions of dental plaque material. *Acta Odont. Scand.* 22: 457-475, 1964.

10. Neff, D. : Acid production from different carbohydrates sources in human plaque in situ. *Caries Res.* 1: 78-87, 1967.
11. Gibbons, R. J. and Fitzgerald, R. J. : Dextran-induced agglutination of *Streptococcus mutans*, and its potential role in the formation of microbial dental plaques. *J. Bacteriol.* 98 : 341-346, 1969.
12. Rundegren, J., Koulouvides, T. and Ericson, T. : contribution of maltitol and lycasin® to experimental enamel demineralization in the human mouth. *Caries Res.* 14 : 67-64, 1980.
13. Würsch, P. and Koellreutter, B. : Maltitol and maltotriitol as inhibitors of acid production in human dental plaque. *Caries Res.* 16 : 90-95, 1982.
14. Kakuta, H., Iwami, Y., Mayanagi, H. and Takahashi, N. : Xylitol inhibition of acid production and growth of mutans streptococci in the presence of various dietary sugars under strictly anaerobic conditions. *Caries Res.* 37 : 404-409, 2003.
15. 平沢正知、武笠寿彦、八木精一、池田 正 : Maltose の *Streptococcus mutans* Insoluble Glucan 合成阻害作用について. *日大口腔科学.* 2 : 163-167, 1976.
16. Lingsträm, P., Birkhed, D., Granfeldt, Y. Björck, I. : pH measurements of human dental plaque after consumption of starchy foods using the microtouch and the sampling method. *Caries Res.* 27 : 394-401, 1993.
17. Edgar, W.M. and Dodds, M.W.J. : The effect of sweeteners on acid production in plaque. *Int Dent. J.* 35 : 18-22, 1985.
18. Lingström, P., Björck, I. Drews, A. and Birkhed, D. : Effects of chemically modified starches in suspensions and lozenges on pH of human dental plaque. *Second. J. Dent. Res.* 99 : 30-39, 1991.
19. Skinner, A., Connolly, P. and Naylor, M. N. : The influence of the replacement of dietary sucrose by maltose on the formation and biochemistry of human dental plaque. *Archs Oral Biol.* 27 : 603-608, 1982.
20. Lowry, O.H., Rosebrough, N.T., Farr, A.L., Randall, R.J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265-275, 1951.